

平成 29 年 12 月 26 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25600003

研究課題名(和文) DNAセルフアセンブリによる分子準結晶の実現

研究課題名(英文) The creation of molecular quasi-crystals by DNA self-assembly

研究代表者

田川 美穂 (Tagawa, Miho)

名古屋大学・未来材料・システム研究所・准教授

研究者番号：40512330

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：(1)二種類のDNAを修飾したDNA-NPをSLB上に吸着させ、SLBの面内拡散により二次元的に拡散・結晶化した。二つの結合距離を発現できる粒子を拡散・結合させるシミュレーションにより準結晶を作成した先行研究で予測された通り、二種類の結合状態が混在した状態が出現することが確認された。(2)ナノ粒子の三次元準結晶作成には、数本のDNAから成るナノサイズの多面体を介在させる方法が考えられるが、まずは最もシンプルな正四面体の場合のDNA-NPとの結合状態に関して詳細を調べた。結合部位の長さや配列を変えて小角散乱測定により結晶構造解析を行うことにより、きれいに結晶化できる条件を見つけた。

研究成果の概要(英文)：(1) The creation of quasicrystals by double-encoded DNA functionalized nanoparticles (DNA-NPs) on supported lipid bilayer (SLB). DNA-NPs, which were encoded by two types of DNA single-strands, were diffused, assembled and crystallized on SLB. Two-lengthscale particle formations were realized by using the double-encoded DNA-NPs. (2) Nanoparticle quasicrystal assembly mediated by designed DNA nanostructures. DNA-NPs were assembled by using DNA tetrahedral constructs. We studied optimum conditions of the lengths of DNA linkers and base sequences of recognition sites for assembling nanoparticle quasicrystals.

研究分野：ナノバイオサイエンス

キーワード：ナノ粒子 DNA 準結晶 self-assembly nanoparticle

### 1. 研究開始当初の背景

1982年、Daniel Shechtman は準結晶を発見し[1]、この成果で2011年のノーベル化学賞を受賞した。Shechtman らのアルミニウム・マンガン合金準結晶の発見後、2007年には松下裕秀らのグループがブロック共重合体の分子準結晶を発見[2]、また2011年には寺崎治らがメソポーラスシリカ準結晶を発見し[3]、合金準結晶よりも大きなメソスコピックスケールにおける分子準結晶の存在を世に知らしめた。これらの発見により、準結晶はスケールによらず存在するものと考えられる。

一方、ナノ粒子の超格子構造は、光学分野ではコロイドフォトニック結晶、メタマテリアルの実現手段として期待される。その他にも、光学的、触媒的、電気的に特異な性質をもつナノ粒子の応用は学術的にも工業的にも期待が大きいため、それらをどう組み立てるか、またどの様に構造制御するかは重要課題である。この問題を解決するための一つの方法は、構成粒子間の相互作用に「コード可能な」ものを利用することである。プログラム可能な性質を持ち、かつ比較的安定な生体分子であるDNAは、最も有力な分子である。

ナノ粒子表面をDNAで修飾してコード化すると、DNAの相補性により粒子間の相互作用が制御され、マイクロサイズの秩序的な結晶構造へと成長させることができる[4, 5]。DNAの長さや配列、ナノ粒子の大きさを変えることで、面心立方や体心立方等、ナノ粒子の結晶構造を変えることができる。この方法で準結晶を作成した例はこれまでなかった。我々はこれに挑戦した。

#### <引用文献>

[1] D. Shechtman *et al.*, *Phys. Rev. Lett.*, **53**, 20, 1951-1953, 1984.

[2] K. Hayashida *et al.*, *Phys. Rev. Lett.* **98**, 195502, 2007.

[3] C. Xiao *et al.*, *Nature* **487**, 349-353, 2012.

[4] D. Nykypanchuk *et al.*, *Nature* **451**, 549-552, 2008.

[5] R. J. Macfarlane *et al.*, *Science* **334**, 204-208, 2011.

### 2. 研究の目的

本研究は、ナノ粒子をDNA分子でコード化することによりその空間配置を精密に制御し、メソスコピック領域あるいはコロイド次元の準結晶を実現することを目的とする。DNAはアデニン(A)、チミン(T)、グアニン(G)、シトシン(C)の四種類の塩基からなり、その配列を自由に設計して合成することができる。四種類の塩基の配列により結合できる

相手(DNA相補鎖)が決まるため、適切に配列設計したDNAをナノ粒子に修飾すると、ナノ粒子同士の相互作用を制御して選択的に結合させることができる。このように、DNA分子のプログラマビリティ及び特異的分子認識能力を利用すると、ナノ粒子の相互作用及び結合を制御して空間配置を精密に制御できるだけでなく、その超格子構造設計の自由度が飛躍的に高くなるため、他の方法では実現できないようなナノ構造形成が可能となる。

### 3. 研究の方法

DNA分子を用いてナノ粒子の準結晶を実現するために、申請時には次の二つの方法を提案した。

(1) 二種類の粒径の異なるDNA修飾ナノ粒子(DNA-NP)から成る準結晶作成

(2) DNAナノ構造体を介在させたDNA-NPの準結晶作成

その後研究の進展に伴い、手法を少々変更した。理由は次の通り。

(1)に関しては、2014年に堂寺らが「二種類の結合状態を発現する粒子のシミュレーション」により二次元準結晶ができることを報告した[1]。長さや結合力の異なる二種類のDNAをナノ粒子に修飾すれば、堂寺らのシミュレーションの系の二種類の結合長を実現できると考えた(図1)。

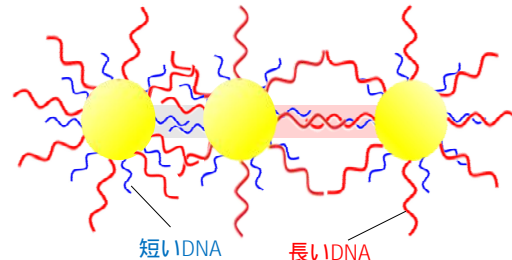


図1. 二種類のDNAを修飾したナノ粒子(DNA-NP)

また二次元結晶化においては、基板に吸着させつつ二次元に拡散できる機構が必要である。これは、スケールは異なるが、結晶成長において原子が結晶面を二次元拡散する原理と同様である。我々はこの結晶成長における二次元拡散の系をDNA-NPで実現するために、DNAとの親和性と面内流動性を併せ持つ脂質二重膜を利用することを考えた。実際の結晶化では、基板上に脂質二重膜を製膜した基板担持脂質二重膜(SLB)を用いることにした。図2は、SLB上におけるDNA-NPの拡散・結晶化の模式図である。DNA-NPはSLBに吸着した状態でSLB上を二次元的に拡散する。温度を上げると相転移によりSLBの面内流動性が上がるため、SLBの相転移温度より高い温度から徐冷することでDNA-NPを拡散・結晶化させる。結晶化の過程で、DNAの選択的結合によりナノ粒子の配置が決まる。このように、SLBとDNA-NPを用いて堂寺らのシミュレ

ーションの系を実現することに取り組んだ。

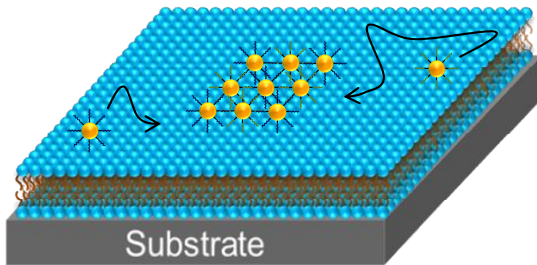


図2. 脂質二重膜 (SLB) 上における DNA 修飾ナノ粒子 (DNA-NP) の拡散・結晶化

また (2) に関しては、DNA 構造体とナノ粒子の結合状態の詳細を解明することが非常に重要であることに気づき、まずは周期構造でそれを解明することが準結晶作成への早道であると判断し、この課題を追求した。最も単純な DNA ナノ構造体である DNA 正四面体を用い、DNA-NP との結合状態を調べた (図 3)。

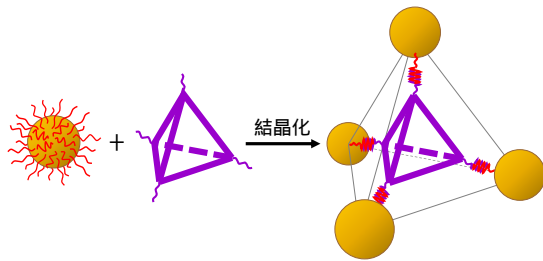


図3. DNA 修飾ナノ粒子 (DNA-NP) とナノサイズの DNA 正四面体の結晶化

#### < 引用文献 >

[1] T. Dotera et al., *Nature* 506, 208-211, 2014.

#### 4. 研究成果

(1) 基板担持脂質二重膜 (SLB) 上における二種類の DNA を修飾したナノ粒子 (DNA-NP) の二次元準結晶作成

二種類の DNA を修飾した DNA-NP を SLB 上に吸着させ、SLB の面内拡散により二次元的に拡散・結晶化した。二つの結合距離を発現できる粒子を拡散・結合させるシミュレーションの先行研究において、結合距離の比が、例えば 1.4 の場合に 12 回対称の準結晶構造が形成されることがわかっている。二つの結合距離が出現するように設計した長さの異なる二種類の DNA をナノ粒子に修飾して DNA-NP を作成し、SLB 上で結晶化した。

脂質の相分離による寄せ集めの影響により、DNA-NP の凝集状態に影響が出ることがわかってきたため、相分離が起きない温度領域で DNA-NP 二次元結晶の粒子配置を原子間力顕微鏡 (AFM) により測定・解析したところ、脂質の相分離による寄せ集めの影響は起きていないことがわかった。また、この温度領域では、二種類の結合状態が混在した状態が出現することも確認された (図 4)。

の AFM 像より粒子間距離を解析すると、粒子間距離の割合のグラフ (図 4 (b)) で二つのピークが現れた。ちなみに、一種類だけの DNA を修飾した場合の二次元結晶で同様の解析を行い、粒子間距離の割合をグラフにすると、ピークは一つしか現れない。

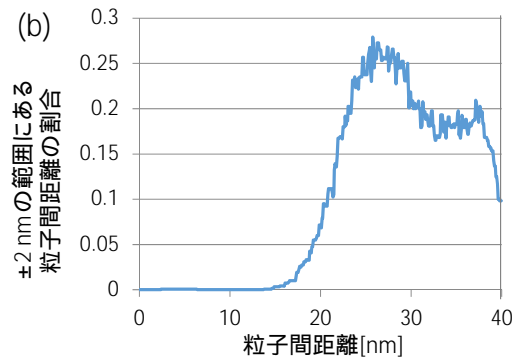
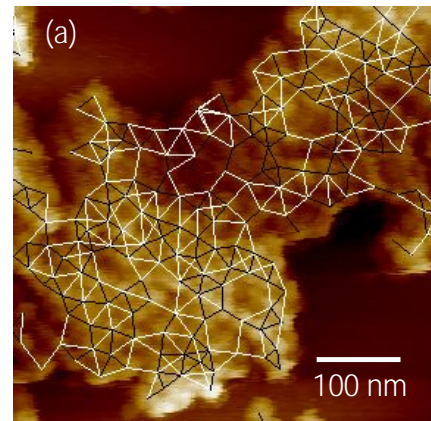


図4. 二種類の DNA を修飾したナノ粒子の二次元結晶化. (a) 原子間力顕微鏡 (AFM) 像 (b) 粒子間距離の割合

また、粒子の拡散係数や DNA の結合力など、実際の実験系に近い条件で二種類の DNA を修飾した DNA-NP の結晶化のシミュレーションも行い、構造予測を行った。その結果、二つの結合距離の混在状態を実現し、並進対称性はなく回折像が一二回対称を示す準結晶構造をシミュレーションにより実現することに成功した。

#### (2) DNA 構造体とナノ粒子の結合状態に関する研究

DNA-NP と DNA ナノ構造体を用いて準結晶を作成することを模索していたが、研究の進展とともに、DNA ナノ構造体と DNA-NP との結合状態と最適な結合条件を調べることが非常に重要であることがわかってきた。ナノ粒子の三次元準結晶作成には、数本の DNA から成るナノサイズの多面体を介在させる方法が考えられるが、まずは最もシンプルな正四面体の場合の DNA-NP との結合状態に関して詳細を調べた (図 5)。

ナノ粒子に結合する DNA の非結合部分であるリンカー 1、DNA 正四面体から伸びる一本鎖 DNA の非結合部分であるリンカー 2、及び両者が二重螺旋を形成する



認識配列部位の長さや配列を変え、小角散乱測定により DNA-NP と DNA 正四面体が一対一で結合してきれいに結晶化できる条件を見つけた。DNA-NP と DNA ナノ構造体の体積比も重要であることがわかった。

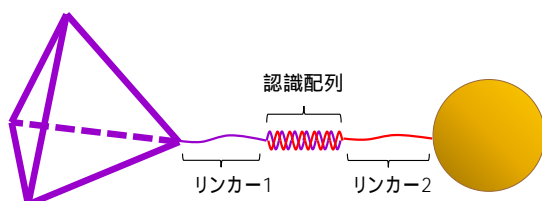


図5. DNA 修飾ナノ粒子 (DNA-NP) とナノサイズの DNA 正四面体の結合部

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計3件)

T. Isogai, A. Piednoir, E. Akada, Y. Akahoshi, R. Tero, S. Harada, T. Ujihara, M. Tagawa, Forming two-dimensional structure of DNA-functionalized Au nanoparticles via lipid diffusion in supported lipid bilayers, *J. Cryst. Growth* **401**, 494-498, 2014, 査読有.

Wenyan Liu, Miho Tagawa, Huolin Xin, Tong Wang, Hamed Emamy, Huilin Li, Kevin G. Yager, Francis W. Starr, Alexei V. Tkachenko, Oleg Gang, Diamond Family of Nanoparticle Superlattices, *Science*, **351**, 6273, 582-586, 2016, 査読有.

Takumi Isogai, Eri Akada, Sakiko Nakada, Naoya Yoshida, Ryugo Tero, Shunta Harada, Toru Ujihara, Miho Tagawa, Effect of magnesium ion concentration on two-dimensional structure of DNA-functionalized nanoparticles on supported lipid bilayer, *Jpn. J. Appl. Phys.*, **55**, 03DF11, 2016, 査読有.

[学会発表](計8件)

Miho Tagawa, Nanoparticle Assembly mediated by Designed DNA Nanostructures, Programmable Self-Assembly of Matter, New York University, USA, June 30<sup>th</sup>-July 2<sup>nd</sup>, 2013.

T. Isogai, A. Piednoir, E. Akada, Y. Akahoshi, R. Tero, S. Harada, T. Ujihara, M. Tagawa, Two-dimensional crystallization of DNA-functionalized nanoparticles via lipid diffusion in supported lipid bilayers, 15th International Summer School on Crystal Growth(ISSCG-15), Gdansk University of

Technology, Poland, August 4-10<sup>th</sup>, 2013.

T. Isogai, A. Piednoir, E. Akada, Y. Akahoshi, R. Tero, S. Harada, T. Ujihara, M. Tagawa, Forming two-dimensional structure of DNA-functionalized Au nanoparticles via lipid diffusion in supported lipid bilayers, 17th International Conference on Crystal Growth and Epitaxy (ICCGE-17), University of Warsaw, Poland, August 11-16<sup>th</sup>, 2013.

磯貝卓己, Agnes Piednoir, 赤田英里, 赤星祐樹, 手老龍吾, 原田俊太, 宇治原徹, 田川美穂, 脂質分子をキャリアとした DNA 被覆金ナノ粒子の2次元結晶化, 応用物理学会第74回応用物理学会秋季学術講演会, 同志社大学京田辺キャンパス, 2013年09月16日.

Miho Tagawa, DNA-mediated Nanoparticle Assembly, The 2nd International Workshop on Convergence in Condensed Matter and Nano Physics, Sungkyunkwan University, Korea, October 7-9<sup>th</sup>, 2013.

田川美穂, ガング・オレグ, 磯貝卓己, 赤田英里, 宇治原徹, 第51回日本生物物理学会年会シンポジウム・反応場デザインによる生命現象の再構成-創って知る生物物理-, 国立京都国際会館, 2013年10月29日.

勝野弘康, 田川美穂, 宇治原徹, ブラウニアン動力学法を用いた2次元2成分結晶の構造形成シミュレーション, 日本結晶成長学会第43回結晶成長国内会議(NCCG-43), 長野市生涯学習センター, 2013年11月08日.

Miho Tagawa, Oleg Gang, Takumi Isogai, Sakiko Nakada, Eri Akada, Shunta Harada, Toru Ujihara, Material Architectonics on Sustainable Action (MASA), NIMS, Tsukuba, July 19<sup>th</sup>, 2014.

[図書](計1件)

田川美穂, DNA と基板担持脂質二重膜とを用いたナノ粒子の結晶化, 応用物理学会有機分子・バイオエレクトロニクス分科会会誌, 25, 2, 145-148, 2014.

[産業財産権]

出願状況(計1件)

名称: 2次元ナノ粒子構造体及びその製造方法

発明者: 田川美穂, 宇治原徹, 磯貝卓己, 赤田英里

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特願 2013-126144 号, 特許 6086595

出願年月日: 平成 25 年 6 月 1 4 日

国内外の別： 国内

〔その他〕

ホームページ等

[http://profs.provost.nagoya-u.ac.jp/view/html/100006436\\_ja.html](http://profs.provost.nagoya-u.ac.jp/view/html/100006436_ja.html)

6．研究組織

(1)研究代表者

田川 美穂 (TAGAWA, Miho)

名古屋大学・未来材料・システム研究所・  
准教授

研究者番号：40512330